

(12) NACH DEM VERFAHREN ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. März 2004 (18.03.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/022779 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12Q 1/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2003/002936

(22) Internationales Anmeldedatum:
1. September 2003 (01.09.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 40 746.0 1. September 2002 (01.09.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): EPIGENOMICS AG [DE/DE]; Kastanienallee 24,
10435 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHATZ, Philipp
[DE/DE]; Winsstrasse 41, 10405 Berlin (DE). SCHUS-
TER, Matthias [DE/DE]; Kastanienallee 107, 13158
Berlin (DE). BERLIN, Kurt [DE/DE]; Marienkäferweg
4, 14532 Stahnsdorf (DE).

(74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Neue Promenade 5,
10178 Berlin-Mitte (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 3. Juni 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR THE DETECTION OF NUCLEIC ACID SEQUENCES BY MEANS OF CRACKABLE PROBE
MOLECULES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS VON NUKLEINSÄURESEQUENZEN MITTELS SPALTBARER SON-
DENMOLEKÜLE

(57) Abstract: The invention relates to a method for detecting nucleic acid sequences, which is characterized by the fact that the
following steps are carried out: a) at least one nucleic acid is bound onto a solid phase; b) probe molecules which are provided with
a crackable bond and a probe molecule-specific mass marker are hybridized in a sequence-specific manner to the nucleic acid; c)
the probe molecules that are not hybridized are removed; d) the hybridized probe molecules are brought into contact with a matrix
which cracks said crackable bonds and is used as a matrix in a MALDI mass spectrometer; e) the mass markers are detected in the
positions in which the nucleic acid is bound.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung beschreibt ein Verfahren zum Nachweis von Nukleinsäuresequenzen, dadurch
gekennzeichnet, dass folgende Schritte ausgeführt werden: a) mindestens eine Nukleinsäure wird auf einer Festphase gebunden;
b) Sonden-moleküle werden sequenzspezifisch an die Nukleinsäure hybridisiert, wobei die Sonden-moleküle mit ei-ner spaltbaren
Bindung und einer Massenmarkierung versehen sind, welche für das Sonden-molekül spezifisch ist; c) Entfernung der nicht hybri-
disierten Sonden-moleküle; d) Kontaktieren der hybridisierten Sonden-moleküle mit ei-ner Matrix, die besagte spaltbaren Bindungen
spaltet und zugleich als Matrix in einem MALDI-Massenspektrometer dient; e) Nachweis der Massenmarkierung an den Positionen,
an denen die Nukleinsäure gebunden wurde.

WO 2004/022779 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 03/02936

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EMBASE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	OLEJNIK J ET AL: "Photocleavable peptide-DNA conjugates: synthesis and applications to DNA analysis using MALDI-MS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 27, no. 23, 1 December 1999 (1999-12-01), pages 4626-4631, XP002220753 ISSN: 0305-1048 the whole document	1-10, 15-23
Y	----- -/-	11-14

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 March 2004

Date of mailing of the international search report

16/04/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Knudsen, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr al Application No
PCT/E 03/02936

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>SHCHEPINOV MIKHAIL S ET AL: "Matrix-induced fragmentation of P3'-N5' phosphoramidate-containing DNA: High-throughput MALDI-TOF analysis of genomic sequence polymorphisms" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 29, no. 18, 15 September 2001 (2001-09-15), pages 3864-3872, XP002274768 ISSN: 0305-1048 cited in the application Scheme 1</p> <p style="text-align: center;">---</p>	11-13
Y	<p>WO 01 98527 A (BERLIN KURT ;EPIGENOMICS AG (DE); GUT IVO GLYNNE (FR)) 27 December 2001 (2001-12-27) claims 15,19-23,25</p> <p style="text-align: center;">---</p>	14
Y	<p>SAUER SASCHA ET AL: "Facile method for automated genotyping of single nucleotide polymorphisms by mass spectrometry." NUCLEIC ACIDS RESEARCH. ENGLAND 1 MAR 2002, vol. 30, no. 5, 1 March 2002 (2002-03-01), page e22 XP002258710 ISSN: 1362-4962 figure 1</p> <p style="text-align: center;">---</p>	11-14
X	<p>WO 99 60007 A (HAMILTON ALAN LEWIS ;SHCHEPINOV MIKHAIL SERGEEVICH (GB); SOUTHERN) 25 November 1999 (1999-11-25) page 10 -page 11; claims 31-36; figure 6; examples 2-4 claims 51-53 page 8, line 13-15</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-16, 20-23
X	<p>WO 97 37041 A (SEQUENOM INC) 9 October 1997 (1997-10-09) page 34, paragraph 2</p> <p style="text-align: center;">---</p>	23
A	<p>HAHNER S ET AL: "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of DNA using photocleavable biotin" BIOMOLECULAR ENGINEERING, ELSEVIER, NEW YORK, NY, US, vol. 16, no. 1-4, 31 December 1999 (1999-12-31), pages 127-133, XP004257809 ISSN: 1389-0344 sentence briding pages 132-133</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-23
A	<p>DE 101 04 938 A (EPIGENOMICS AG) 14 August 2002 (2002-08-14) abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-23
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter al Application No

DE 03/02936

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GRIFFIN T J ET AL: "SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ANALYSIS BY MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, vol. 18, 2000, pages 77-84, XP002952305 ISSN: 0167-7799 the whole document	1-23
P,A	WO 03 002760 A (DISTLER JUERGEN ;EPIGENOMICS AG (DE); LEU ERIK (DE)) 9 January 2003 (2003-01-09) abstract	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 03/02936

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0198527	A	27-12-2001	DE 10029914 A1 AU 7564901 A CA 2411400 A1 WO 0198527 A2 EP 1292711 A2 US 2003104464 A1	03-01-2002 02-01-2002 06-12-2002 27-12-2001 19-03-2003 05-06-2003
WO 9960007	A	25-11-1999	AT 256142 T AU 3943799 A CA 2332862 A1 DE 69913509 D1 EP 1068216 A2 WO 9960007 A2 JP 2002515588 T	15-12-2003 06-12-1999 25-11-1999 22-01-2004 17-01-2001 25-11-1999 28-05-2002
WO 9737041	A	09-10-1997	US 6194144 B1 AU 2217597 A WO 9737041 A2 US 6238871 B1	27-02-2001 22-10-1997 09-10-1997 29-05-2001
DE 10104938	A	14-08-2002	DE 10104938 A1 WO 02061124 A2 EP 1358358 A2	14-08-2002 08-08-2002 05-11-2003
WO 03002760	A	09-01-2003	DE 10132212 A1 WO 03002760 A2	06-03-2003 09-01-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/02936

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, EMBASE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	OLEJNIK J ET AL: "Photocleavable peptide-DNA conjugates: synthesis and applications to DNA analysis using MALDI-MS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, Bd. 27, Nr. 23, 1. Dezember 1999 (1999-12-01), Seiten 4626-4631, XP002220753 ISSN: 0305-1048 das ganze Dokument	1-10, 15-23
Y	----- -/-	11-14

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. März 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

16/04/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Knudsen, H

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	SHCHEPINOV MIKHAIL S ET AL: "Matrix-induced fragmentation of P3'-N5' phosphoramidate-containing DNA: High-throughput MALDI-TOF analysis of genomic sequence polymorphisms" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, Bd. 29, Nr. 18, 15. September 2001 (2001-09-15), Seiten 3864-3872, XP002274768 ISSN: 0305-1048 in der Anmeldung erwähnt Scheme 1	11-13
Y	WO 01 98527 A (BERLIN KURT ;EPIGENOMICS AG (DE); GUT IVO GLYNNE (FR)) 27. Dezember 2001 (2001-12-27) Ansprüche 15,19-23,25	14
Y	SAUER SASCHA ET AL: "Facile method for automated genotyping of single nucleotide polymorphisms by mass spectrometry." NUCLEIC ACIDS RESEARCH. ENGLAND 1 MAR 2002, Bd. 30, Nr. 5, 1. März 2002 (2002-03-01), Seite e22 XP002258710 ISSN: 1362-4962 Abbildung 1	11-14
X	WO 99 60007 A (HAMILTON ALAN LEWIS ;SHCHEPINOV MIKHAIL SERGEEVICH (GB); SOUTHERN) 25. November 1999 (1999-11-25) Seite 10 -Seite 11; Ansprüche 31-36; Abbildung 6; Beispiele 2-4 Ansprüche 51-53 Seite 8, Zeile 13-15	1-16, 20-23
X	WO 97 37041 A (SEQUENOM INC) 9. Oktober 1997 (1997-10-09) Seite 34, Absatz 2	23
A	HAHNER S ET AL: "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of DNA using photocleavable biotin" BIOMOLECULAR ENGINEERING, ELSEVIER, NEW YORK, NY, US, Bd. 16, Nr. 1-4, 31. Dezember 1999 (1999-12-31), Seiten 127-133, XP004257809 ISSN: 1389-0344 sentence bridging pages 132-133	1-23
A	DE 101 04 938 A (EPIGENOMICS AG) 14. August 2002 (2002-08-14) Zusammenfassung	1-23
	--- -/--	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/02936

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p> GRIFFIN T J ET AL: "SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ANALYSIS BY MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY" TREND IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, Bd. 18, 2000, Seiten 77-84, XP002952305 ISSN: 0167-7799 das ganze Dokument </p>	1-23
P,A	<p> WO 03 002760 A (DISTLER JUERGEN ;EPIGENOMICS AG (DE); LEU ERIK (DE)) 9. Januar 2003 (2003-01-09) Zusammenfassung </p>	1-23

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internat. des Aktenzeichen

PCT/DE 03/02936

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0198527	A	27-12-2001	DE 10029914 A1 03-01-2002
		AU 7564901 A	02-01-2002
		CA 2411400 A1	06-12-2002
		WO 0198527 A2	27-12-2001
		EP 1292711 A2	19-03-2003
		US 2003104464 A1	05-06-2003
WO 9960007	A	25-11-1999	AT 256142 T 15-12-2003
		AU 3943799 A	06-12-1999
		CA 2332862 A1	25-11-1999
		DE 69913509 D1	22-01-2004
		EP 1068216 A2	17-01-2001
		WO 9960007 A2	25-11-1999
		JP 2002515588 T	28-05-2002
WO 9737041	A	09-10-1997	US 6194144 B1 27-02-2001
		AU 2217597 A	22-10-1997
		WO 9737041 A2	09-10-1997
		US 6238871 B1	29-05-2001
DE 10104938	A	14-08-2002	DE 10104938 A1 14-08-2002
		WO 02061124 A2	08-08-2002
		EP 1358358 A2	05-11-2003
WO 03002760	A	09-01-2003	DE 10132212 A1 06-03-2003
		WO 03002760 A2	09-01-2003